

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

N° d'ordre : 161.

RECHERCHES SUR L'ADAPTATION DU STERIGMATOCYSTIS NIGRA AU LACTOSE

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR L'OBTENTION DU

DIPLOME D'ÉTUDES SUPÉRIEURES

(*Physiologie*)

PAR

M^{lle} Fernande COUPIN

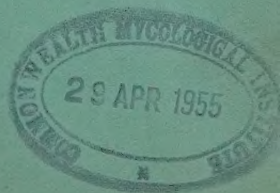
LICENCIÉE ÈS SCIENCES

JURY	{	MM. DASTRE. . . .	<i>Président.</i>
D'EXAMEN		MOLLIARD . . .	{ <i>Examineurs.</i>
		PORTIER . . .	

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1914



FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

N° d'ordre : 161.

RECHERCHES SUR L'ADAPTATION DU STERIGMATOCYSTIS NIGRA AU LACTOSE

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR L'OBTENTION DU

DIPLOME D'ÉTUDES SUPÉRIEURES

(*Physiologie*)

PAR

M^{lle} **Fernande COUPIN**

LICENCIÉE ÈS SCIENCES

JURY	}	MM. DASTRE. . . .	<i>Président.</i>
D'EXAMEN		MOLLIARD . . .	} <i>Examineurs.</i>
		PORTIER . . .	

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1914

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen P. APPELL, *professeur*. Mécanique rationnelle.

Doyen honoraire . . . G. DARBOUX — Géométrie supérieure.

Professeurs honoraires. { CH. WOLF.
J. RIBAN.

<i>Professeurs</i>	{	LIPPMANN	Physique.
		BOUUTY	Physique.
		BOUSSINESQ	Physique math. et calcul des probabilités.
		PICARD	Analyse supérieure et algèbre supérieure.
		Y. DELAGE	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
		G. BONNIER	Botanique.
		DASTRE	Physiologie.
		KOENIGS	Mécanique physique et expérimentale.
		VÉLAIN	Géographie physique.
		GOURSAT	Calcul différentiel et calcul intégral.
		HALLER	Chimie organique.
		JOANNIS	Chimie (Enseignement P. C. N.).
		JANET	Physique — —
		WALLERANT	Minéralogie.
		ANDOYER	Astronomie physique.
		PAINLEVÉ	Mathématiques générales.
		HAUG	Géologie.
		HOUSSAY	Zoologie.
		H. LE CHATELIER	Chimie.
		G. BERTRAND	Chimie biologique.
		M ^{me} P. CURIE	Physique générale.
		CAULLERY	Zoologie, Evolution des êtres organisés.
		C. CHABRIÉ	Chimie appliquée.
		G. URBAIN	Chimie.
		BOREL	Théorie des fonctions.
		MARCHIS	Aviation.
		J. PERRIN	Chimie Physique.
		G. PRUVOT	Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
		MATRUCHOT	Botanique.
		ABRAHAM	Physique.
		CARTAN	Calcul différentiel et calcul intégral.
		C. GUICHARD	Mathématiques générales.
MOLLIARD	Physiologie végétale.		
N.	Application de l'analyse à la géométrie.		
N.	Histologie.		

<i>Professeurs adjoints</i>	{	PUISEUX	Mécanique et astronomie.
		LEDUC	Physique.
		MICHEL	Minéralogie.
		HÉROUARD	Zoologie.
		L. BERTRAND	Géologie.
		R. PERRIER	Zoologie. (Enseignement P. C. N.).
		COTTON	Physique.
		LESPIEAU	Chimie.
		GENTIL	Pétrographie.
		SAGNAC	Physique (Enseignement P. C. N.).
PEREZ	Zoologie (Evolution des êtres organisés).		

Secrétaire. D. TOMBECK.

RECHERCHES SUR L'ADAPTATION DU « STERIGMATOCYSTIS NIGRA » AU LACTOSE

Par

Mlle **FERNANDE COUPIN**

INTRODUCTION

Dans les manifestations de la vie, les phénomènes de nutrition sont d'une importance capitale. Il faut, pour qu'un organisme puisse vivre, qu'il utilise les principes immédiats que lui fournit le milieu extérieur. Il est aujourd'hui démontré que la digestion et, par suite, l'utilisation d'un aliment sont étroitement liées à la présence ou à l'absence, chez l'être vivant, des ferments solubles capables d'opérer la transformation de l'aliment en composés assimilables par l'organisme.

De plus, les ferments solubles ou diastases ne sont aptes qu'à des actions chimiques précises; des faits nombreux ont, en effet, montré leur extrême sensibilité vis-à-vis des modifications de structure des corps qu'elles attaquent.

Voici quelques exemples caractéristiques (1) : l'alanyl-glycyl est hydrolysée par le suc pancréatique, tandis que la glycyl-alanine ne l'est pas (ABDERHALDEN et FISCHER); l'invertine détache beaucoup plus difficilement le lévulose lorsqu'elle s'attaque au raffinose que lorsqu'elle agit sur le saccharose (BIERRY); le lactose est hydrolysé facilement par le suc intestinal de vache, l'acide lactobionique et la lactosazone ne le sont pas (BIERRY); le suc de foie saponifie rapidement l'éther succinique, il attaque beaucoup plus lentement les éthers malique et tartrique (ARMSTRONG et ORMEROL); au cours de la saponification du mandélate d'éthyle par le suc de foie, il se forme d'abord de l'acide mandélique droit, l'acide mandélique gauche étant beaucoup plus difficilement mis en liberté (DAKIN). On voit donc que poids moléculaire, configuration, pouvoir rotatoire, addition de fonctions supplémentaires peuvent influencer sur les actions diastatiques. Un être vivant peut sécréter une diastase qui dédouble une substance donnée et ne pas pouvoir attaquer une substance très voisine mais, par exemple, de configuration différente; il lui sera, par suite, impossible de vivre dans un milieu dans lequel la seconde substance aura remplacé la première. Il faudra, pour qu'il puisse vivre dans le nouveau

milieu, qu'il modifie ses diastases et les adapte au chimisme imposé par la nouvelle substance. C'est en cela que consiste l'adaptation.

La question de l'influence de la nature chimique de l'aliment sur les sécrétions diastasiques est très importante. Un régime alimentaire peut-il faire apparaître des diastases nouvelles? Les travaux relatifs à l'ontogénie des diastases sont peu nombreux. DUCLAUX (2), à propos des Mucédinées, a nettement posé la question. Soit, écrit-il, une cellule pouvant vivre aux dépens de diverses substances qui, comme le sucre candi, l'amidon, la caséine, ont besoin, avant de devenir assimilables, alimentaires, de subir l'action d'une diastase spéciale à chacune d'elles. Cette cellule sécrète-t-elle d'une façon constante, et en quelque sorte nécessaire, toutes les diastases qu'elle a le pouvoir ou l'occasion d'utiliser, ou bien la production de ces diastases est-elle intermittente, subordonnée aux conditions d'alimentation et liée à la présence de l'aliment qu'il s'agit de digérer? En d'autres termes, cette cellule sécrète-t-elle à la fois toutes les diastases ou seulement chacune d'elles au fur et à mesure de ses besoins?

Les Champignons, principalement les Mucédinées, sont un matériel de choix pour ces recherches, car ils peuvent vivre aux dépens de substances très variées.

Un exemple très connu est fourni par l'*Aspergillus glaucus*, qui sécrète uniquement une amylase quand il est cultivé dans un liquide composé de lactate de calcium, d'un sel d'ammonium et de sels minéraux, mais qui, ensemencé sur du lait, fournit une présure et une caséase, et qui, cultivé en présence de sucre, donne une sucrase et pas d'amylase. L'organisme, dans ce cas, sécrète seulement la diastase dont il a un besoin immédiat.

Il n'en est pas tout à fait de même pour le *Penicillium crustaceum*. Celui-ci, cultivé sur du lactate de calcium, ne donne ni présure, ni caséase, mais une sucrase très active; cultivé sur un milieu composé de glycérine, de carbonate de calcium et d'un aliment azoté et minéral, il sécrète naturellement de la sucrase, mais, de plus, une petite quantité d'amylase. L'organisme sécrète donc plus de diastases que celles qui lui sont immédiatement nécessaires.

Des recherches récentes de COLIN (3) ont montré le même phénomène pour le *Botrytis cinerea*. En effet, ce champignon, cultivé sur du saccharose ou du glucose, élabore, outre l'invertine, un nombre considérable de diastases capables d'hydrolyser le maltose, le lactose, le raffinose, le stachyose et le gentianose.

Une autre Mucédinée, le *Sterigmatocystis nigra* (*Aspergillus niger*), a été beaucoup étudiée au point de vue de l'adaptation; nous ne retiendrons ici que les travaux se rapportant à l'influence du lactose.

On sait que les recherches classiques de RAULIN (4) ont permis de réaliser un liquide de culture fournissant des cultures abondantes et de poids constant. Le *Sterigmatocystis nigra*, cultivé sur du liquide Raulin normal, c'est-à-dire contenant du saccharose comme seul hydrate de carbone, ne fournit pas de lactase (5).

DUCLAUX a préconisé une méthode de culture qui consiste à remplacer, sous une culture florissante de *Sterigmatocystis nigra*, le liquide sous-jacent par un liquide ne différant du liquide Raulin normal que par l'hydrate de carbone, le lactose remplaçant le saccharose. POTTEVIN (6) a employé cet artifice

et a trouvé que dans ces conditions on obtient, par macération dans l'eau chloroformée, un liquide capable d'hydrolyser le lactose. BRACHIN (7) a, au contraire, obtenu des résultats négatifs; il n'a pu, à aucun moment, déceler de lactase dans le mycélium du *Sterigmatocystis nigra*. Cette divergence de résultats nous a amené à reprendre complètement l'étude de l'adaptation du *Sterigmatocystis nigra* au lactose.

A cette question de l'adaptation se rattache celle de l'utilisation du lactose. En effet, A. DASTRE (8) a établi que le rôle alimentaire du lactose exigeait son interversion préalable, et a prévu, dès 1878, que cette transformation était le fait d'un ferment soluble. Voici ce qu'il écrit en 1890, à la suite de ses expériences sur l'injection en nature du lactose dans les veines : « Le lactose est utilisé par les éléments anatomiques. Il doit donc être offert à ces éléments sous une forme différente de celle sous laquelle il a été ingéré. Il a dû subir une transformation analogue aux transformations digestives. La plus simple chimiquement est la transformation en glucose et galactose, qui sont tous les deux directement assimilables par les éléments anatomiques. » Cinq ans plus tard, la découverte, dans l'intestin, de lactase, par PAUTZ et VOGEL, ROHMANN et LAPPE, venait entièrement justifier ces prévisions.

Si les animaux sont incapables d'assimiler le lactose en nature, les organismes inférieurs eux-mêmes ne peuvent l'utiliser que s'il a subi une hydrolyse préalable. En 1887, DUCLAUX montrait que les levures ordinaires ne font pas subir au lactose la fermentation alcoolique, et il décrivit, pour la première fois, une levure qui possède la propriété exceptionnelle de faire fermenter le lactose, mais il ne fait pas allusion à l'hydrolyse possible du sucre de lait par une diastase. Cette idée est toutefois nettement émise par BEYERINCK (9), qui constate que certaines bactéries lumineuses sont incapables de se développer dans un milieu où la matière sucrée est constituée par du lactose; de plus, il remarque le développement et la phosphorescence de ces bactéries quand le liquide est préalablementensemencé avec le *Saccharomyces Kephir*; il attribue ces phénomènes au dédoublement du lactose par une lactase sécrétée par le *Saccharomyces*, les bactéries pouvant se développer aux dépens des produits d'hydrolyse du sucre de lait.

Il nous a donc paru intéressant de déterminer si le *Sterigmatocystis nigra* a le pouvoir de dédoubler le lactose, car le fait, indiqué par BRACHIN, pour ce champignon de se développer aux dépens du lactose, sans sécrétion de lactase, est unique et contraire à tout ce qu'on connaît vis-à-vis de l'utilisation, par les organismes, des bioses.

Nous avons, de plus, cherché à savoir si le champignon se comporte de la même façon vis-à-vis du lactose aux différents stades de son développement et si l'hérédité peut modifier les phénomènes.

Une première partie sera consacrée à l'exposé des techniques employées dans les cultures, la recherche des sucres et leur dosage. Nous insisterons particulièrement sur la recherche des produits d'hydrolyse du lactose.

Nous exposerons dans une deuxième partie les expériences faites d'après PORTEVIN, l'erreur qu'elles comportent et le résumé des expériences faites suivant notre méthode.

Enfin, nous indiquerons les résultats obtenus par la dialyse chloroformique, ceux fournis par les essais relatifs à l'influence de l'hérédité et les conclusions

que nous pouvons tirer touchant l'adaptation comparée de la spore et du mycélium.

Ces recherches ont été poursuivies au laboratoire de M. le professeur Dastre, qui nous a toujours accueilli avec la plus grande bienveillance. Nous le prions d'agréer l'expression de notre sincère gratitude.

Le sujet de ce travail nous a été donné par M. H. Bierry ; qu'il nous soit permis de lui adresser tous nos remerciements pour les conseils qu'il nous a constamment prodigués.

TECHNIQUES

I. MÉTHODE DES CULTURES. — La moisissure que nous avons étudiée est le *Sterigmatocystis nigra* Van Tieghem (synonymes : *Aspergillus niger* Van Tieghem, *Sterigmatocystis antacustica* Cramer, *Eurotium nigrum* de Bary).

Les spores servant à l'ensemencement provenaient de cultures sur carotte, renouvelées assez souvent pour n'avoir à employer que des spores fraîches.

Certaines cultures étaient faites sur un milieu pour lequel Raulin a indiqué la composition suivante :

Eau.....	1 500 grammes.
Sucre candi.....	75
Acide tartrique.....	4
Nitrate d'ammoniaque.....	4
Phosphate d'ammoniaque.....	0,6
Carbonate de potassium.....	0,6
Carbonate de magnésium.....	0,4
Sulfate d'ammoniaque.....	0,25
Sulfate de zinc.....	0,07
Sulfate de fer.....	0,07
Silicate de potassium.....	0,07

D'autres cultures étaient faites sur un milieu de composition identique, mais dans lequel le lactose remplaçait le sucre candi ; on avait ainsi des cultures sur liquide Raulin lactosé.

Enfin nous verrons que nous avons été amené à cultiver le *Sterigmatocystis nigra* sur un liquide nutritif ne contenant pas d'hydrate de carbone : nous avons alors employé un milieu semblable au milieu Raulin, mais dans lequel le sucre candi était supprimé.

Quel que soit le liquide employé, la technique était toujours la suivante :

Les cultures étaient faites dans des fioles d'Erlenmeyer de 300 c. c., bouchées avec du coton et préalablement lavées à l'acide sulfurique et à l'eau distillée. Chaque fiole recevait 75 c. c. de liquide et était stérilisée à l'autoclave à 120° pendant 20 minutes. Dans ces conditions, le saccharose subit un début d'intervention, mais nous verrons que cela n'avait pas d'inconvénient pour nos recherches.

Les cultures étaient ensuite ensemencées aseptiquement, avec des spores, prélevées avec une longue aiguille de platine, d'une culture pure sur carotte. On agitait un peu afin de répartir uniformément les spores, dont quelques-unes sont noyées, mais dont la plupart surnagent. Les fioles étaient portées à l'étuve à 34°. On obtient, par cette méthode, des cultures rapides et régulières.

II. DÉTERMINATION DU POIDS SEC DES MYCÉLIUMS. — Une première série de renseignements se rapportant à l'influence du lactose sur le développement du *Sterigma-*

tocystis nigra nous est fournie par la pesée des mycéliums. Pour cela, nous avons opéré de la façon suivante : le liquide sous-jacent de la culture est décanté, on recueille le mycélium sur un filtre sans pli, sec et pesé. Quand le mycélium est mince et mou, il sort très facilement de la fiole en une seule masse; mais, lorsque le mycélium est épais et dur, il faut le fractionner et le sortir avec une baguette de verre aplatie et coudée à son extrémité. Il peut rester des fragments de mycélium et de très nombreuses spores sur les parois de la fiole; pour entraîner le tout, on lave celle-ci avec 100 c. c. d'eau, par petites quantités, on recueille ces eaux de lavage sur le filtre. Afin d'être sûr que les cultures n'entraînent pas, à leur surface, les éléments du liquide de culture, on lave le mycélium recueilli sur le filtre avec 50 c. c. d'eau froide, puis avec 50 c. c. d'eau bouillante; les mycéliums sont ainsi comparables, puisqu'on a dissous les sels qu'ils pouvaient retenir en quantités variables. On laisse égoutter pendant une demi-heure, et le tout est desséché à 140° jusqu'à poids constant. La différence entre le poids obtenu et le poids du filtre donne le poids sec du mycélium.

III. DOSAGE DU LACTOSE. — Une autre série de renseignements nous est donnée par les dosages du sucre contenu dans le liquide sous-jacent de la culture; on peut ainsi savoir si le mycélium consomme ou non l'hydrate de carbone qu'on lui fournit.

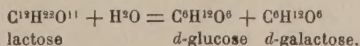
Le lactose, ou sucre du lait, est un biose réducteur; il est donc possible de suivre les variations de ce sucre au moyen de la liqueur de Fehling. Pour nos dosages, nous avons fait usage de la méthode de Gabriel BERTRAND (10), devenue aujourd'hui classique.

Il fallait d'abord s'assurer que les éléments minéraux contenus dans le liquide Raulin ne troublaient pas le dosage. Pour cela, nous avons préparé du liquide Raulin avec du lactose pur; celui-ci était obtenu par le procédé de C. Tauret, qui consiste à évaporer à l'ébullition une solution de sucre de lait, la cristallisation commence à 108° et cette température reste stationnaire jusqu'à ce que la masse soit devenue pâteuse; à ce moment, on arrête le feu et on délaye la bouillie cristalline dans de l'alcool à 80° bouillant; les cristaux sont essorés à la trompe, puis lavés à l'alcool chaud et enfin desséchés sur l'acide sulfurique. Nous avons dosé le lactose et nous avons ainsi constaté que les substances qui accompagnent le lactose dans le liquide Raulin n'apportent pas de perturbations au dosage de ce sucre par la méthode Bertrand. Nous indiquerons pour chaque expérience les quantités de lactose employées.

Certaines précautions sont nécessaires pour doser tout le lactose et ne pas négliger celui qui a pénétré par osmose dans le mycélium. Pour cela, le liquide sous-jacent de la culture est décanté sur un filtre et recueilli dans un ballon jaugé de 1 000 cm³. Le mycélium est mis en contact avec de l'eau tiède, destinée à entraîner le lactose qui imprègne la face inférieure du mycélium, cette eau est décantée ensuite sur le filtre. Quand le mycélium est ainsi bien lavé, on le broie avec du sable et on l'épuise avec de l'eau bouillante pour extraire tout le sucre contenu dans le mycélium, cette dernière eau de lavage est également recueillie sur le filtre. On complète à 1 000 cm³ et on prélève 20 cm³ pour le dosage.

IV. RECHERCHE DE LA LACTASE. — Nous avons vu qu'à la question de l'utilisation du lactose par le champignon se rattache celle de la sécrétion d'une diastase hydrolysante ou lactase.

La lactase ne peut être caractérisée par elle-même, mais seulement par ses produits d'hydrolyse; son action se mesure au dédoublement qu'elle fait subir au sucre de lait en glucose et galactose suivant l'équation :



Pour déceler ces deux hexoses dans une liqueur dans laquelle on suppose un dédoublement diastasique du lactose, quatre méthodes peuvent être employées : la méthode polarimétrique, la méthode au cuivre, la méthode des osazones et la méthode des hydrazones.

a) *Méthode polarimétrique.* — Le lactose hydraté a un pouvoir rotatoire très voisin de celui du glucose anhydre, mais sensiblement inférieur à celui du galactose anhydre.

Lactose hydraté α_D	+ 52°,53
Glucose anhydre α_D	+ 52°,50
Galactose anhydre α_D	+ 80°,017

S'il y a hydrolyse totale, il y a donc une différence de :

$$\frac{52,5 + 80,017}{2} - 52,5 = 13,72$$

Le pouvoir rotatoire subit une augmentation de 13°,72; quand l'hydrolyse est partielle, l'augmentation de la déviation permet de calculer la quantité de lactose hydrolysé.

Mais cette méthode est très délicate, car une erreur de lecture a une très grande répercussion sur les résultats; elle ne permet pas, de plus, d'affirmer un dédoublement inférieur à 20 %.

b) *Méthode au cuivre.* — Nous avons déjà indiqué que le lactose est un sucre réducteur; s'il subit une hydrolyse partielle ou totale, le pouvoir réducteur du mélange lactose, glucose, galactose, est supérieur au pouvoir réducteur primitif du lactose. L'augmentation du pouvoir réducteur permet donc de caractériser le dédoublement du lactose, mais, de même que dans la méthode précédente, une hydrolyse inférieure à 20 % ne peut être affirmée d'une façon certaine.

c) *Méthode des osazones.* — C'est ÉMILE FISCHER qui, en 1894, a imaginé cette méthode pour déceler le dédoublement du lactose. Il a montré qu'une solution renfermant un mélange de lactose, glucose et galactose, chauffée à l'ébullition avec de l'acétate de phénylhydrazine, donnait lieu à la formation d'osazones, qu'on pouvait séparer grâce à leur différence de solubilité. Ces osazones ont, de plus, des formes cristallines distinctes et des points de fusion différents.

La lactosazone est soluble dans l'eau bouillante; elle se présente sous forme d'oursins à nombreux piquants; elle fond au bloc Maquenne vers 212-214°.

La glucosazone est insoluble dans l'eau bouillante, l'alcool méthylique, l'acétone étendue. Ses cristaux ont la forme d'aiguilles en pinceau ou de branches de genêt. Son point de fusion est 230°.

La galactosazone est insoluble à chaud; elle se présente sous forme d'oursins moins sphériques que ceux de la lactosazone; elle fond à 214°.

BIERRY et BRACHIN ont précisé la technique à suivre et donné le moyen de séparer facilement la lactosazone des osazones du glucose et du galactose. Ces auteurs ont montré qu'il est impossible de déceler ainsi un dédoublement du lactose inférieur à 20 %. Cela tient à ce que la lactosazone entraîne en solution de la galactosazone et que la lactosazone est beaucoup plus soluble en présence de ce mélange qu'en présence de glucosazone seule (11).

Voici la technique que nous avons suivie. On additionne la liqueur qu'on suppose avoir subi l'action de la lactase de phénylhydrazine et d'acide acétique à 50 %, dans la proportion de 2 c. c. de phénylhydrazine et de 2 c. c. d'acide par gramme de sucre. On porte au bain-marie bouillant pendant 1 h. 1/2. Après avoir constaté ou non la présence d'osazones insolubles à chaud, on laisse refroidir pendant 24 heures dans le bain-marie. Au bout de ce temps, on reporte la liqueur, de nouveau, à l'ébullition et on filtre, à chaud, sur un filtre sans pli (filtre Schleicher dur). Les osazones qui restent sur le filtre sont soigneusement lavées à l'eau distillée

bouillante, puis à l'acétone étendue d'eau; la glucosazone et la galactosazone sont ainsi séparées de la lactosazone. Le filtrat, abandonné à l'air, laisse déposer des cristaux de lactosazone, caractérisés par leur forme cristalline et leur point de fusion.

La glucosazone et la galactosazone se différencient par leurs formes cristallines; le point de fusion du mélange, tout en étant inférieur à celui de la glucosazone, reste supérieur à celui de la lactosazone.

d) *Méthode des hydrazones*. — Cette méthode a été indiquée récemment par BIERRY et RANC (12) pour déceler de petites quantités de glucose et de galactose en présence de lactose. Plus sensible que celle des osazones, elle permet d'apprécier une hydrolyse de 10 et même 8 % du lactose dans une solution.

De ces quatre méthodes, les deux dernières seules permettent d'affirmer avec une certitude absolue l'hydrolyse du lactose, puisqu'elles permettent l'obtention de dérivés caractéristiques des produits du dédoublement. La méthode des hydrazones est la plus sensible des deux, mais la plus difficile et la plus longue à manier. Nous verrons, dans la suite de cet exposé, que, dans le cas particulier qui nous occupait, elle ne nous offrait pas de grands avantages sur la méthode des osazones : aussi avons-nous toujours employé cette dernière.

EXPÉRIENCES

Quand on fournit à un organisme une substance qui n'entre pas dans ses aliments ordinaires, il y a des modifications de l'être qui se traduisent par des phénomènes différents suivant l'être et suivant la substance. Quelquefois l'organisme utilise la substance et reconstitue avec elle son protoplasme, et peut se développer aux dépens de son nouvel aliment, et cela soit directement, soit par l'intermédiaire de nouvelles diastases; on dit qu'il s'est adapté.

D'autres fois, au contraire, la substance n'est pas consommée par l'organisme, et celui-ci, non seulement ne peut se développer à l'aide de ce seul élément, mais, sous son influence, dépérit ou meurt; la substance est toxique pour lui.

Entre ces deux cas extrêmes se place un cas intermédiaire. On a alors un organisme qui ne peut vivre aux dépens de son nouvel aliment quand celui-ci lui est seul fourni, mais qui ne paraît pas modifié quand on ajoute la substance à des aliments qui permettent un développement normal, l'organisme ne réagit pas; la substance lui est indifférente.

Nous nous sommes proposé de déterminer à quel cas se rattache l'action du lactose sur le *Sterigmatocystis nigra*, c'est-à-dire s'il y a adaptation du champignon ou si le sucre de lait lui est toxique ou simplement indifférent.

Nous pouvons fournir le lactose soit à la spore, soit au mycélium du *Sterigmatocystis nigra*. Étudions d'abord les résultats que nous avons obtenus en donnant le lactose comme aliment à la spore.

I. ACTION DU LACTOSE SUR LA SPORE DU « STERIGMATOCYSTIS NIGRA ». — Le *Sterigmatocystis nigra* se développe sur de la noix de galle, des fruits acides, du pain mouillé de vinaigre, etc. RAULIN a depuis longtemps indiqué la composition d'un liquide tellement approprié à la Mucédinée, qu'on obtient, dans des con-

ditions physiques déterminées, des récoltes abondantes et de poids constant (voir p. 4).

Si on ensemence des spores de *Sterigmatocystis nigra* sur du liquide Raulin normal, on obtient un développement rapide et abondant. Au bout de 24 heures, il y a apparition de taches très nettes qui ne tardent pas à se réunir, le mycélium devient épais, sa surface est d'un blanc éclatant, il est très plissé. Les spores apparaissent au bout de deux jours et le mycélium en est bientôt couvert, les spores sont très noires. A partir de ce moment la culture ne s'accroît plus, le mycélium brunit ainsi que le liquide sous-jacent.

Si nous fournissons à la spore un liquide de même composition, mais dans lequel le lactose remplace le saccharose, les phénomènes que nous observons sont très différents. Au bout de deux jours seulement, on voit apparaître de petites taches très disséminées et très légères, elles se réunissent peu à peu, mais ne forment pas un feutrage consistant; on a une plaque mince, molle, translucide. Quand le mycélium couvre le liquide d'une pellicule, les spores apparaissent très vite, elles sont nombreuses, mais de couleur moins foncée que les spores obtenues par culture sur saccharose. Le développement ne se poursuit pas, il n'y a pas apparition de nouvelles spores, le mycélium se réduit, se désagrège et, au bout de quatre jours, la culture est tout à fait flétrie.

Le lactose ne semble donc pas être un aliment aussi favorable que le saccharose pour le *Sterigmatocystis nigra*, et on peut supposer que le développement, faible il est vrai, du mycélium est dû aux éléments autres que le lactose contenus dans le liquide de culture. Pour vérifier cette hypothèse, ensemençons des spores sur du liquide Raulin ne contenant aucun hydrate de carbone; dans ces conditions nous obtenons un développement absolument semblable à celui des cultures sur lactose: mycélium lent à se former et très mince, spores brunes, mycélium se désagrégeant. Si, pour plus de précision, nous prenons le poids des mycéliums des cultures sur lactose et sur liquide sans sucre, les résultats sont de même ordre; nous pouvons, pour comparer, indiquer le poids des mycéliums de même âge obtenus sur saccharose:

	Saccharose	Lactose	Sans sucre
3 jours.....	2 ^{gr} ,661	0 ^{gr} ,36	0 ^{gr} ,26
5 —	1 ^{gr} ,671	0 ^{gr} ,24	0 ^{gr} ,25
7 —	1 ^{gr} ,510	0 ^{gr} ,26	0 ^{gr} ,24
11 —	1 ^{gr} ,425	0 ^{gr} ,30	0 ^{gr} ,31
13 —	1 ^{gr} ,426	0 ^{gr} ,31	0 ^{gr} ,27

Le lactose ne permet donc pas un développement supérieur à celui qu'on obtient sans lui, il n'est pour la spore du *Sterigmatocystis nigra* ni un aliment ni une substance toxique, il lui est indifférent. On doit donc penser que le champignon ne l'utilise pas; c'est bien ce que l'on constate en dosant le lactose dans le liquide sous-jacent. En effet, si on a soin d'extraire tout le sucre qui a pu pénétrer dans le mycélium, on voit qu'au fur et à mesure que le *Sterigmatocystis* se développe, le lactose est toujours en quantité constante, il n'est pas consommé. On vérifie de même qu'on ne trouve jamais de glucose et de galactose dans le mycélium développé sur le sucre de lait et qu'on ne peut pas déceler de lactase comme il était naturel de le penser.

Nous venons de voir l'action du lactose sur la spore des *Sterigmatocystis nigra*,

mais le mycélium du champignon réagit peut-être différemment ? C'est ce que nous avons cherché, en reprenant les expériences de Pottevin.

II. EXPÉRIENCES D'APRÈS POTTEVIN. — DUCLAUX a, le premier, indiqué qu'on pouvait fournir le lactose au *Sterigmatocystis nigra*, quand celui-ci a déjà atteint un certain développement. Pour cela on ensemence des spores sur du liquide Raulin normal, c'est-à-dire au saccharose, et, lorsque le mycélium a couvert le liquide de culture et a acquis une certaine consistance, on décante le liquide sous-jacent et on introduit sous la culture du liquide Raulin au lactose. POTTEVIN a employé cet artifice et a indiqué que dans ces conditions le champignon continue à se développer et consomme le lactose. Voici les résultats que nous avons obtenus.

Si nous remplaçons sous une culture normale de trois jours le liquide sous-jacent par du Raulin lactosé, il y a apparition des spores comme dans les cultures témoins restées sur saccharose, le mycélium continue à se développer, les spores sont noires et non pas brunes, comme celles qui proviennent de cultures directes sur lactose. Si nous opérons de même sur des cultures de cinq jours, cultures qui ont déjà des spores, nous observons au-dessus de ces spores le développement d'un léger mycélium blanc qui ne tarde pas à couvrir toute la culture primitive et à produire à son tour des spores noires. Dans ces deux cas il y a augmentation de poids du mycélium, donc, contrairement aux résultats obtenus par cultures directes, le lactose semble favoriser le développement du mycélium du *Sterigmatocystis nigra*.

Si nous dosons le lactose dans le liquide sous-jacent, en prenant les précautions que nous avons indiquées (voir p. 5), nous constatons dès le premier jour une augmentation du pouvoir réducteur du liquide ; ce résultat semble indiquer qu'il y a eu dédoublement du lactose ; les jours suivants, le pouvoir réducteur diminue et redevient égal à celui du liquide primitif de culture et, continuant à diminuer, il devient nul au bout de quatorze jours ; le mycélium consomme donc le lactose qu'on lui fournit. Nous devons remarquer que les chiffres obtenus étaient assez variables d'une expérience à l'autre.

L'augmentation du pouvoir réducteur nous a amené à penser que le lactose était hydrolysé. En employant la méthode des osazones (p. 6), nous avons décelé du glucose dans le liquide sous-jacent ; ce résultat paraît étonnant, car, toutes les fois qu'on a pu mettre en évidence de la lactase, celle-ci était toujours une diastase endocellulaire et, dans les cultures que nous étudions, elle devrait avoir exsudé au dehors. De plus, la quantité de glucosazone qu'on obtient diminue et, au bout de huit jours, il ne s'en forme plus dans le liquide de culture.

De même que le liquide sous-jacent de la culture, le mycélium contient aussi du glucose, comme le prouve la formation du glucosazone dans un extrait aqueux de ce mycélium. La quantité de glucosazone formée diminue et devient nulle au bout de dix jours seulement. Cette constatation est, de même que celle du lactase endocellulaire, faite pour surprendre, car nous avons vu qu'il y a encore du lactose dans le liquide sous-jacent au bout de huit ou même de dix jours, et que ce lactose est peu à peu consommé.

III. CAUSE D'ERREUR. — Cette discordance dans les résultats nous a amené

à nous demander si le glucose n'aurait pas une origine différente de celle que nous lui attribuons, en d'autres termes si le glucose provient bien du dédoublement du lactose. On sait, en effet, que, cultivé sur du liquide Raulin normal, le *Sterigmatocystis nigra* sécrète au dehors une diastase, l'invertine, qui dédouble le saccharose en glucose et lévulose; il y a aussi, très rapidement, beaucoup de glucose dans le liquide sous-jacent de la culture, glucose qui est peu à peu consommé par le mycélium; il faut donc nous assurer qu'en remplaçant le Raulin au saccharose par du liquide Raulin au lactose dans nos cultures, il ne reste pas du tout de glucose, sans cela tous nos résultats seraient faussés. Pour le constater, nous décantons très soigneusement le liquide sous-jacent d'une culture florissante sur saccharose et nous introduisons sous la culture de l'eau distillée; au bout d'une heure de contact nous voyons que cette eau réduit la liqueur de Fehling, elle contient donc du glucose provenant de l'hydrolyse du saccharose et qui imprégnait le mycélium; notre manière d'opérer était donc mauvaise, puisque nous laissons une quantité appréciable de glucose. Si nous remplaçons la première eau de lavage par une nouvelle quantité d'eau, celle-ci contient encore du glucose, comme le prouve la réduction de la liqueur de Fehling, mais une troisième eau de lavage n'est plus réductrice. Ce résultat nous indique qu'il faudra, avant d'introduire du Raulin au lactose dans nos cultures, laver soigneusement, au moins trois fois, la face inférieure des mycéliums afin d'entraîner tout le glucose qui les imprègne.

Cette précaution ne nous permet pas d'affirmer cependant que le mycélium lui-même ne contient pas de glucose, car une certaine quantité peut avoir pénétré par osmose dans le mycélium et ne pas avoir été emportée par les lavages; pour être renseigné à ce sujet nous avons fait l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE III. — On ensemence six cultures de *Sterigmatocystis nigra* sur du liquide Raulin normal; au bout de 4 jours on décante le liquide sous-jacent et, après avoir lavé trois fois les mycéliums, on introduit sous les cultures du liquide Raulin ne contenant pas d'hydrate de carbone, afin que, si nous trouvions du glucose, nous soyons sûr qu'il provient bien du saccharose primitif. Les mycéliums sont ensuite broyés avec du sable et portés à l'ébullition avec de l'eau acidulée avec quelques gouttes d'acide acétique; la bouillie qu'on obtient est filtrée et lavée avec de l'eau bouillante. On recueille le filtrat et les eaux de lavage, et on concentre le tout par ébullition. La liqueur refroidie et neutralisée est additionnée de liqueur de Fehling et portée à l'ébullition au bain-marie. On obtient les résultats suivants :

Nombre de jours de contact avec liquide sans sucre.	Réduction.
1.	+
2.	+
3.	+
4.	peu nette.
5.	0
6.	0

Nous voyons ainsi que le mycélium, même soigneusement lavé, contient du glucose; celui-ci ne disparaît complètement du champignon qu'au bout de 5 jours.

Dans les expériences faites suivant la méthode de Pottévin il y a donc une

double cause d'erreur ; les résultats ne peuvent être correctement interprétés, puisqu'il y a non seulement du glucose qui imprègne le mycélium, mais du glucose dans l'intérieur même du champignon ; il est impossible dans ces conditions de savoir si le mycélium se développe aux dépens du glucose ou aux dépens du lactose qu'on lui fournit ; on ne peut, de plus, déceler une lactase.

IV. ACTION DU LACTOSE SUR LE MYCÉLIUM DU « STERIGMATOCYSTIS NIGRA ». — Les constatations précédentes nous ont amené, pour déterminer s'il y a adaptation du mycélium au lactose, à adopter le dispositif suivant.

Les spores sont ensemencées sur liquide Raulin normal. Quand le mycélium couvre toute la surface et a une certaine consistance, ce qui arrive généralement au bout de 3 jours ; on décante très soigneusement le liquide et on laisse égoutter pendant une demi-heure. Les mycéliums sont ensuite lavés trois fois et laissés en contact avec l'eau, chaque fois une heure. On s'assure dans chaque expérience que la dernière eau du lavage n'est plus réductrice ; s'il n'en était pas ainsi, on laverait une quatrième fois. Afin que le champignon consomme le glucose contenu à son intérieur, on introduit sous la culture du liquide Raulin sans hydrate de carbone et on reporte les cultures à l'étuve pendant 5 jours. Nous avons constaté dans toutes les expériences qu'à ce moment tous les mycéliums ne contiennent plus de glucose ; on peut alors leur fournir du liquide Raulin au lactose, après avoir décanté le liquide sous-jacent.

En opérant ainsi, voici les résultats que nous obtenons. Pendant leur passage sur milieu sans sucre, les mycéliums n'augmentent pas de poids, ils noircissent et se rétractent, ils acquièrent seulement des spores brunes, le liquide sous-jacent contient de très nombreux débris. Quand on introduit le liquide lactosé, les cultures présentent rapidement un autre aspect : les mycéliums blanchissent, le liquide sous-jacent reste limpide, les spores qui existaient germent et donnent un feutrage qui recouvre bientôt toute la surface, les mycéliums épaississent, il se forme des spores nombreuses et noires.

La détermination du poids des mycéliums nous fournira des renseignements plus précis, mais nous devons remarquer que nous fournissons au champignon divers éléments et qu'il est nécessaire de dissocier leur action ; en effet, en introduisant du liquide Raulin lactosé, nous donnons au mycélium, en plus du lactose, tous les éléments normaux du milieu Raulin, acide tartrique, nitrate et phosphate d'ammoniaque, etc., et le développement que nous observons pourrait être dû à ces substances ; pour supprimer cette cause d'erreur, nous avons fait l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE II. — Vingt-quatre cultures restées 3 jours sur saccharose et 5 jours sur milieu sans sucre sont partagées en quatre lots : A, B, C, D.

Le lot A est laissé comme témoin sur son liquide.

Dans les cultures du lot B, on opère normalement, c'est-à-dire qu'on remplace le liquide sous-jacent par du liquide Raulin lactosé.

Le lot C sert à déterminer si les éléments minéraux du Raulin sont actifs. Pour cela, on décante le liquide sous-jacent et on introduit sous la culture du nouveau liquide Raulin sans hydrate de carbone.

Dans le lot D, le liquide sous-jacent est décanté et additionné de lactose qu'on fait dissoudre à chaud ; le liquide sucré ainsi obtenu, refroidi et ramené à son vo-

lume primitif, est réintroduit sous les mycéliums; nous fournissons au champignon du lactose mais aucun élément minéral nouveau.

Voici les résultats que nous obtenons (en grammes) :

Jours.	Lot A.	Lot B.	Lot C.	Lot D.
5.....	0,361	0,980	0,339	1,194
6.....	0,325	1,710	0,251	1,589
8.....	0,399	1,686	0,403	1,513
10.....	0,420	1,824	0,367	1,733
12.....	0,519	2,849	0,511	2,910
14.....	0,311	1,902	0,325	1 501

Les chiffres des lots B et D indiquent que le lactose favorise le développement du *Sterigmatocystis nigra*, ainsi que nous l'avions supposé par le simple examen des cultures.

Dans le lot C, nous constatons dans tous les cas une légère diminution; les éléments minéraux du liquide Raulin ne sont donc pas actifs; quant à la différence de poids entre le lot A et le lot C, elle peut s'expliquer par le fait qu'en décantant le liquide sous-jacent, nous entraînons une assez grande quantité de débris de mycélium qui flottaient, débris qui sont conservés et pesés dans le lot A.

Le sucre de lait doit être consommé par le champignon, puisqu'il augmente son développement. C'est bien, en effet, ce que nous avons observé dans toutes nos expériences. Voici, par exemple, les chiffres que nous avons obtenus en dosant le lactose dans des cultures transportées sur du liquide Raulin lactosé et préalablement dosé¹.

	Cuivre réduit par 10 c. c.
0 jour.....	92 milligr.
1 —	90,1
2 —	80,2
3 —	72,2
4 —	59,4
5 —	53,4
6 —	46,5
7 —	37,6
8 —	26,7
9 —	12,8
10 —	0

Le mycélium consomme donc, en 10 jours, le lactose qu'on lui fournit, c'est-à-dire 3^{es},5 dans nos expériences. Ce résultat est tout à fait différent de celui que nous obtenions à partir de la spore, qui, elle, n'utilisait pas le lactose. On a coutume de considérer le mycélium comme moins apte que la spore à supporter les variations des conditions extérieures; dans le cas que nous étudions, c'est l'inverse qui se présente : le mycélium s'adapte au lactose, tandis que la spore est incapable d'utiliser le sucre de lait.

Le lactose, étant un biose, n'est pas directement assimilable par les organismes; nous avons cherché s'il en est bien de même pour le *Sterigmatocystis nigra*. Pour cela, il faut déceler la présence des produits d'hydrolyse et l'existence d'une lactase.

Sur le premier point, nos résultats ont été négatifs. Nous n'avons jamais obtenu de glucosazone ou de galactosazone à partir du liquide sous-jacent de

¹ Pour la méthode suivie, voir p. 5.

cultures sur lactose; le champignon ne sécrète donc pas une diastase qui exsude dans le liquide de culture : cela ne nous étonne pas, car nous avons vu que, dans tous les cas bien étudiés, la lactase s'est montrée endocellulaire. Mais, de plus, le mycélium lui-même ne contient pas du tout de glucose et de galactose. En broyant des mycéliums et en faisant agir l'acétate de phénylhydrazine sur l'extrait aqueux obtenu, on observe la formation de lactosazone, mais jamais on ne voit, même au microscope, des cristaux de glucosazone. Ceci peut être dû au fait que le champignon ne sécrète pas de lactase ou bien qu'il produit une lactase dont les produits d'hydrolyse sont consommés au fur et à mesure de leur formation. La première hypothèse est la moins vraisemblable, car nous serions en présence d'un cas contraire à ce que l'on sait de l'utilisation de tous les bioses; la seconde est plus conforme à nos connaissances relatives aux sécrétions diastatiques, elle nous a conduit à rechercher la lactase qu'on suppose sécrétée par le *Sterigmatocystis nigra*.

V. RECHERCHE DE LA LACTASE. — Il est inutile de chercher une lactase dans le liquide sous-jacent, car il est évident que, si elle existait, elle hydrolyserait le lactose du liquide Raulin. La lactase, si elle existe dans le *Sterigmatocystis nigra*, est endocellulaire. Nous avons cherché à la déceler, non pas par elle-même, mais par les produits du dédoublement qu'elle opère.

EXPÉRIENCE I. — On décante le liquide sous-jacent de dix cultures ensemencées sur saccharose et transportées sur lactose après un passage de cinq jours sur un milieu sans sucre. Les mycéliums sont recueillis, broyés avec du sable et mis à macérer une heure dans 100 c. c. d'eau. L'extrait aqueux est filtré et réparti en quatre flacons. Un premier contient l'extrait simple; dans un second on verse l'extrait après l'avoir porté à l'ébullition pour tuer la diastase. Un troisième flacon renferme l'extrait additionné de 20 centigr. de lactose pur. Enfin, on ajoute dans le quatrième la même quantité de sucre de lait à l'extrait bouilli. Afin d'avoir des milieux aseptiques, on verse dans les quatre flacons quelques gouttes de chloroforme et quelques gouttes de toluol; le tout est porté à l'étuve à 28° pendant six jours. On voit, au bout de ce temps, quelles combinaisons on obtient avec la phénylhydrazine¹.

Dans tous les liquides, on constate la formation de lactosazone, mais dans aucun on ne reconnaît de glucosazone.

Donc, contrairement à ce que nous pensions, l'extrait aqueux ne contient pas de lactase décelable par ses produits de dédoublement, et nos conclusions, sur ce point, concordent avec celles de BRACHIN. Mais nous avons eu l'idée d'appliquer le procédé de la dialyse chloroformique, préconisé par DASTRE dans la recherche de l'amylase du foie (13) et employé fréquemment depuis, en particulier par DOYON, pour l'antithrombine du foie (14); il consiste à plonger un organe ou un organisme dans une atmosphère de chloroforme; dans ces conditions, l'eau qui sort entraîne certaines substances et certaines diastases à l'exclusion d'autres; dans le cas qui nous occupe, les vapeurs chloroformiques entraîneront peut-être la lactase qui n'était pas extraite par une simple macération des mycéliums broyés dans l'eau. Nous avons opéré de la façon suivante :

¹ Voir p. 6.

EXPÉRIENCE IV. — On broie avec du sable les mycéliums de dix cultures de *Sterigmatocystis nigra*, restées :

3	jours sur saccharose.
5	— milieu sans sucre.
6	— lactose.

La bouillie obtenue est versée sur un entonnoir garni d'un morceau de tarlatane; un récipient est placé sous l'entonnoir pour recueillir le liquide qui s'écoulera. On place à côté un cristalliseur contenant du chloroforme et on recouvre le tout avec une cloche reliée à une trompe à eau. Afin que la bouillie mycélienne soit dans une atmosphère saturée de chloroforme, on fait le vide dans la cloche. Quand on a atteint un vide partiel, on supprime la communication avec la trompe et on laisse en état pendant 24 heures. Le chloroforme s'évapore, la bouillie est baignée par des vapeurs chloroformiques et on voit s'écouler peu à peu un liquide de l'entonnoir, liquide constitué d'eau et de chloroforme qui entraîne certaines substances. Au bout de 24 heures, on exprime les mycéliums dans la tarlatane et on ajoute l'extrait obtenu au liquide recueilli.

Le liquide total fourni par la dialyse chloroformique est, comme l'extrait aqueux de l'expérience précédente, divisé en quatre parties :

- A. Extrait simple ;
- B. Extrait bouilli ;
- C. Extrait simple + 20 centigr. de lactose ;
- D. Extrait bouilli + 20 centigr. de lactose.

Les flacons sont portés 6 jours à l'étuve à 28° et traités ensuite à l'acétate de phénylhydrazine.

Les résultats sont tout à fait différents de ceux obtenus avec l'extrait aqueux.

Dans le liquide A il y a formation, en plus de la lactosazone, de glucosazone, qu'on reconnaît à son insolubilité dans l'eau bouillante, l'alcool méthylique, l'acétone étendue; au microscope, on voit très nettement les cristaux en branches de genêt. On obtient une quantité suffisante de glucosazone pour pouvoir prendre le point de fusion, 230°.

On reconnaît au microscope des cristaux de glucosazone dans l'extrait bouilli (B), mais ces cristaux sont beaucoup moins abondants que dans l'extrait simple; ils sont disséminés au milieu de la lactosazone, et il est assez difficile d'en obtenir une quantité qui permette de déterminer le point de fusion.

Quant aux liquides C et D, ils fournissent de la lactosazone, mais pas du tout de glucosazone. Ces résultats peuvent être interprétés de la façon suivante : les vapeurs chloroformiques ont entraîné une lactase qui était contenue dans les cellules du *Sterigmatocystis nigra*, et cette diastase a dédoublé la petite quantité de sucre de lait qui avait pénétré par osmose dans le mycélium, c'est ainsi que s'explique la présence de glucosazone dans l'extrait A. Dans ce liquide, l'hydrolyse continue pendant les 6 jours d'étuve.

Dans l'extrait bouilli B, les conditions sont un peu différentes, le dédoublement commence bien comme dans A, mais s'arrête dès qu'on porte le liquide à l'ébullition; pendant tout le séjour à l'étuve, il n'y a aucune hydrolyse, nous ne devons donc avoir qu'une faible quantité de glucosazone, c'est bien ce que nous avons observé. L'absence de galactosazone ne nous surprend pas, puisque nous savons qu'elle est beaucoup plus difficile à déceler que la glucosazone (voir p. 6).

Dans le cas du flacon C, nous fournissons à la lactase extraite par la dialyse chloroformique une quantité relativement grande de sucre de lait (nous avons ajouté 20 gr. de lactose) et on peut penser que l'hydrolyse est trop faible pour être décelée; nous avons vu, en effet, que la méthode des osazones ne permet pas d'affirmer un dédoublement inférieur à 20 %, ainsi s'expliquerait l'absence de glucosazone dans l'extrait C et, *a fortiori*, dans l'extrait D, puisque dans celui-ci l'hydrolyse est arrêtée et est, par conséquent, encore plus faible par rapport à la quantité totale du lactose.

En résumé, la dialyse chloroformique nous a permis d'extraire une lactase contenue dans les cellules du *Sterigmatocystis nigra*; nous rentrons dans le cas général du dédoublement du lactose par une diastase endocellulaire.

V. INFLUENCE DE L'HÉRÉDITÉ. — Le mycélium s'adapte au lactose, mais les spores qu'il fournit sont-elles adaptées également? C'est ce que nous avons voulu déterminer par l'expérience suivante :

Expérience I. — On ensemence sur du liquide Raulin au lactose des spores prélevées sur une culture restée :

3	jours	sur	saccharose;
5	—	—	milieu sans sucre;
4	—	—	lactose.

Dans ces conditions, le développement n'est pas supérieur à celui qu'on obtient à partir de spores fournies par cultures sur carotte ou sur saccharose, le lactose n'est pas consommé, il n'y a pas de lactase.

Le mycélium ne transmet donc pas à la spore la propriété d'utiliser le lactose.

Enfin, nous avons cherché à savoir si la spore ne s'adapterait pas après plusieurs générations de cultures sur lactose.

Pour cela, on fait une première culture directe de spores sur lactose; quand le mycélium a sporulé depuis quelque temps, on prélève des spores avec une aiguille de platine et on les ensemence sur du liquide Raulin lactosé, on opère de même avec les spores de cette deuxième culture, etc. On obtient ainsi des cultures de 1^{re}, 2^e, 3^e génération sur lactose. Nos résultats ont été négatifs, la spore du *Sterigmatocystis nigra* ne s'adapte jamais au lactose. Le développement des cultures de générations successives est de moins en moins considérable, le lactose n'est jamais consommé.

CONCLUSIONS

- 1^o La spore du *Sterigmatocystis nigra* ne s'adapte pas au lactose;
- 2^o Le mycélium s'adapte au sucre de lait;
- 3^o Le lactose est dédoublé par le mycélium et utilisé au fur et à mesure;
- 4^o Le dédoublement du lactose est produit par une lactase endocellulaire qu'on peut extraire par dialyse chloroformique.
- 5^o L'hérédité ne modifie pas les manières différentes qu'ont le mycélium et la spore de réagir vis-à-vis du lactose.

BIBLIOGRAPHIE

- (1) LOUIS MOREL et ÉMILE TERROINE. *Journal de Physiologie et de Pathologie générale*, t. XIV, n° 1, janvier 1912.
- (2) DUCLAUX. *Chimie biologique*, Paris, 1883.
- (3) H. COLIN. Hydrolyse de quelques polysaccharides par le *Botrytis cinerea*, *Thèse de la Faculté des Sciences de Paris*, 1911.
- (4) RAULIN. Études chimiques sur la végétation, *Thèse de la Faculté des Sciences de Paris*, 1870.
- (5) BOURQUELOT et HERISSEY. *Journal de pharmacie et de chimie*, 1903.
- (6) POTTEVIN. Stéréochimie des diastases, *Ann. de l'Institut Pasteur*, 1903.
- (7) BRACHIN. *Thèse de pharmacie*, Paris, 1904.
- (8) A. DASTRE, in CLAUDE BERNARD. *Sur les phénomènes de la vie communs aux animaux et aux plantes*. Appendice, p. 543.
- (9) BEYERINCK, *Centrblatt für Bacteriologie und Parasiten-Kunde*, VI, 1889.
- (10) G. BERTRAND. Le dosage des sucres réducteurs. *Bulletin de la Société chimique*, décembre 1906.
- (11) H. BIERRY. Recherches sur les diastases qui concourent à la digestion des hydrates de carbone. *Thèse de la Faculté des Sciences de Paris*, 1911.
- (12) H. BIERRY et ALBERT RANC. Recherche de petites quantités de glucose et de galactose en présence de lactose, *C. R. de la Société de Biologie*, t. LXXVI, 1911.
- (13) A. DASTRE. Physiologie du Foie. Recherches sur les ferments hépatiques. *Archives de Physiologie normale et pathologique*, 1881.
- (14) DOYON. Fibrinogène et anticoagulants, *Biologica*, n° 28.

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

1^{re} QUESTION. — La Tubérisation chez les Végétaux.

2^e QUESTION. — Diabète pancréatique.

VU ET APPROUVÉ,

Paris, le 9 février 1914.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

PAUL APPELL.

